

Smithsonian Tropical Research Institute

Minera Panamá

PROYECTO MINA DE COBRE PANAMÁ

ESTUDIO DE IMPACTO AMBIENTAL (EsIA)

CATEGORIA III

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO DE CONSERVACIÓN EX SITU DE ESPECIES DE INTÉRES DE ANFIBIOS

Compromisos de EsIA Aplicables	Periodo reportado	Elaborado por	Fecha de Emisión del Reporte
13202, 13207, 13208, 13212, 13221, 13223 13232, 13233	**Noviembre 2016 - Enero 2017**	**INSTITUTO SMITSONIAN DE INVESTIGACIONES TROPICALES**	**08/02/2017**

INFORME TRIMESTRAL DEL PROYECTO

“PROPUESTA PARA LA EXTENSIÓN DE LA CONSERVACIÓN EX-SITU DE RANAS DEL ÁREA DE DONOSO POR DOS AÑOS”

Período: Noviembre 2016-Enero 2017

Por: Roberto Ibáñez D., Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá, Smithsonian Tropical Research Institute (STRI)

Fecha: 8 de febrero de 2017

Introducción

El 1 de junio de 2015, Minera Panamá S.A. (MPSA) y el Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (STRI) firmaron un acuerdo con el fin de extender el proyecto de conservación ex situ de anuros del área de Donoso por 2 años. Con este acuerdo se realizarán esfuerzos de conservación e investigación que contribuirán al manejo y preservación de los anfibios de Donoso, enfocándose en las especies de interés (EdI). Este proyecto es coordinado por el Proyecto de Rescate y Conservación de Anfibios de Panamá (PARC) y es llevado a cabo en dos instalaciones para la conservación de este amenazado grupo de vertebrados: (1) el Centro de Conservación de Anfibios de El Valle (EVACC), y (2) el Centro de Investigación y Conservación de Anfibios de Gamboa (Gamboa-ARCC). En este informe se presentan los avances, según los objetivos acordados de este proyecto, realizados durante el período Noviembre 2016-Enero 2017.

Objetivo 1. – Mejorar los procedimientos y tácticas para el manejo de los anfibios, desarrollando mejores prácticas para la conservación ex situ de anfibios en riesgo.

En estos meses, no recibimos solicitudes de los oficiales de la autoridad de la lista roja de anfibios de la UICN SSC, para revisar mapas e información de las especies evaluadas en el taller que llevamos a cabo el 23 de octubre de 2015, con el propósito de realizar las modificaciones pertinentes a la información disponible en línea sobre estas especies (http://www.iucnredlist.org/initiatives/amphibians).

Objetivo 2. – Llevar a cabo expediciones para recolectar especies de anfibios en riesgo en el área de Donoso.

Durante este período, se llevaron a cabo dos expediciones con la intención de buscar y colectar individuos principalmente de tres Especies de Interés (EdI): *Atelopus varius*, *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*, dentro del área de desarrollo del Proyecto Mina de Cobre Panamá, distrito de Donoso, provincia de Colón. Estas expediciones se realizaron durante 14-23 de noviembre y 12-21 de diciembre de 2016. En estas expediciones, Jorge Guerrel y Edgardo Griffith recolectaron individuos fundadores para el programa de conservación ex situ.

En la expedición del mes de noviembre, se recolectó una pareja de *Craugastor evanesco* en el sitio 4CS6. El trabajo de campo que se pudo realizar durante esta expedición fue muy limitado, debido a la constante y fuerte lluvia de la tormenta tropical Otto. Estos ejemplares fueron depositados en el Gamboa-ARCC. Durante la expedición del mes de diciembre, se colectaron una hembra de *Atelopus varius* en la quebrada Valle Grande y un juvenil, dos machos y tres hembras de *Craugastor evanesco*, dos machos de *Gastrotheca cornuta* y un individuo de una salamandra (*Oedipina* sp.) en el sitio 4CS6. Los individuos de *Gastrotheca cornuta* fueron depositados en el EVACC, el resto en el Gamboa-ARCC.

Los individuos que ingresaron a los salones de cuarentena en Gamboa-ARCC y EVACC, fueron tratados como en el trimestre pasado. A los individuos de *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta* se les aplicó el tratamiento preventivo con Itraconazol, no así en el caso de los individuos de *Atelopus varius*. A éstos se les trató con el tratamiento experimental (i.e., Itraconazol y Betadine). Adicionalmente, a cada uno de los individuos del salón de cuarentena se les mantuvo bajo observación y se obtuvo hisopados de la piel para las pruebas de qPCR con el fin de detectar la presencia del *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*). No observamos aparición de lesiones por el hongo *Fusarium keratoplasticum* en la piel de estas ranas. Actualmente, los individuos colectados en el mes de diciembre aún se encuentran en los salones de cuarentena, esperando los resultados de las pruebas de qPCR.

Iniciamos el análisis de las muestras de piel para detectar la presencia del hongo patógeno de los anfibios, *B. dendrobatidis*, a partir de los hisopos obtenidos de los individuos en el campo, durante expediciones pasadas, los cuales se nos habían acumulado por el reemplazo de la máquina de qPCR. En Diciembre, elaboramos y enviamos la solicitud para la renovación del permiso anual de investigación y colecta al Ministerio de Ambiente. Estamos a la espera de dicho permiso para reiniciar las expediciones de campo en el área de Donoso.

Objetivo 3. – Completar y mantener instalaciones para la cría y reproducción de poblaciones en cautividad de las especies de anfibios de interés de Donoso (fondos para dos años adicionales).

Con el propósito de mejorar la cría y reproducción de anfibios en cautiverio, hemos continuado invirtiendo en la capacitación de personal local. Durante este período, tuvimos dos pasantes, Jennifer Warren y Orlando Garcés, estudiantes panameños de biología, en Gamboa-ARCC y EVACC. Ellos fueron capacitados y esperamos poder considerarlos cuando se abran vacantes en el proyecto. Adicionalmente, a inicios de enero, la doctora veterinaria panameña Stephanie Forero, quien participó en una capacitación dirigida a la atención de anfibios durante el trimestre pasado, realizó exitosamente una intervención quirúrgica en un *Craugastor evanesco*, siguiendo las recomendaciones de los médicos veterinarios del proyecto Eric Baitchman (New England Zoo) y Eric Klaphake (Cheyenne Mountain Zoo). Por su parte, el Dr. Allan Pessier (Washington State University) inició los exámenes de necropsia e histopatología de los cuerpos de los anfibios del proyecto, con el propósito de establecer las causas y proponer acciones para las dolencias frecuentes que padecen los anfibios de ambos centros, como lo son edema, malformación de las patas “Spindly Leg Syndrome” (SLS), dermatitis por hongos (i.e., *F. keratoplasticum* y *B. dendrobatidis*), entre otros.

Nuevamente, se hicieron algunas reparaciones en el EVACC, relacionadas a los aires acondicionados, el generador eléctrico de respaldo y el techo. Se recibieron los materiales ordenados para la construcción de las tapas de los tanques de vidrio, en donde se mantienen las ranas, con el fin de ampliar y mejorar nuestra capacidad para albergar anfibios en EVACC y Gamboa-ARCC. En Gamboa-ARCC, hemos continuado trabajando en dos contenedores para mantener y reproducir ranas, uno para ranas de la familia Dendrobatidae del área de Donoso y otro para individuos del género *Atelopus,* este último prácticamente se ha completado. También, preparamos los términos de referencia para el diseño de una pequeña edificación (150 m^2) para la producción de insectos en Gamboa-ARCC, de esta forma se podrán liberar dos contenedores para usarlos para albergar anfibios. Resultado de las consultas con las entidades miembro del proyecto PARC y otros actores, el comité directivo del proyecto decidió la consolidación de las operaciones del EVACC y Gamboa-ARCC. Se espera consolidar ambas operaciones en el Gambo-ARCC y se estará elaborando un plan de consolidación al respecto. Además, estamos elaborando un memorando de entendimiento entre el STRI y Hacienda El Níspero, S.A., con el propósito de llegar a un acuerdo entre ambas partes para que EVACC continúe operando dentro del Zoológico El Níspero.

La producción de invertebrados se ha mantenido al nivel requerido. En EVACC y Gamboa-ARCC se producen principalmente grillos, dos especies de moscas de las frutas, colémbolos y cucarachas para alimentar a las poblaciones de anfibios en cautiverio. Durante el período Diciembre-Enero, entre ambas instalaciones se produjeron más invertebrados de los requeridos como alimento; por lo que, se posible alimentar adecuadamente a los anfibios que mantenemos en el programa ex situ.

Los números de individuos de las poblaciones en cautiverio de las especies de anfibios, procedentes del área de Donoso, que mantenemos actualmente en nuestras instalaciones son:

Especie	Machos	Hembras	Juveniles	Total	Reproducción en cautiverio	Renacuajos	Instalación
Andinobates geminisae	16	14	11	41	+	20	Gamboa-ARCC
Andinobates cf. *minutus*	1	1	0	2	-	0	EVACC
Atelopus varius	55	19	1315	1389	+	>500	EVACC y Gamboa-ARCC
Craugastor evanesco	31	23	9	63	+		EVACC y Gamboa-ARCC
Ecnomiohyla miliaria	2	0	0	2	-	0	EVACC
E. veraguensis	2	0	0	2	-	0	EVACC
Incilius coniferus	1	1	1	3	-	0	EVACC (exhibición)
Gastrotheca cornuta	8	1	1	10	-		EVACC
Oedipina sp.				1	-		
Oophaga vicentei	19	29	0	48	+	>17	Gamboa-ARCC y EVACC
Total	**135**	**88**	**1337**	**1561**		**>537**	Gamboa-ARCC y EVACC

Nota: *Craugastor evanesco, Gastrotheca cornuta* y *Oedipina* sp. no presentan etapa de larvaria o renacuajo libre.

Al 31 de enero de 2017, manteníamos 1560 ranas de 9 especies de anuros y 1 especie de salamandra del área de Donoso. Entre las especies que se mantienen en cautiverio están las cuatro Especies de Interés (EdI) del Proyecto Mina de Cobre Panamá: *Andinobates geminisae*,

Atelopus varius, *Craugastor evanesco* y *Gastrotheca cornuta*. Adicionalmente, el proyecto PARC mantiene especies endémicas de distribución restringida: *Ecnomiohyla veraguensis* y *Oophaga vicentei*, que se encuentran en el área de Donoso y las cuales pueden ser consideradas como especies en peligro y vulnerable, respectivamente. Otras especies, también, provenientes del área de desarrollo del Proyecto Mina de Cobre Panamá, como *Ecnomiohyla miliaria* e *Incilius coniferus*, se tienen con el propósito de estudiarlas por ser especies raras o para exhibición. Además, dos ejemplares de una especie parecida a *Andinobates minutus* y un individuo de una especie desconocida de *Oedipina*.

Prácticamente, tenemos suficientes individuos fundadores para tres de estas especies: *Andinobates geminisae*, *Craugastor evanesco* y *Oophaga vicentei,* aunque sería recomendable obtener unos 11 individuos de *A. geminisae* más. Aún requerimos recolectar 1-6 hembras de *Atelopus varius*, ya que hemos colectado individuos de dos poblaciones distantes y sería conveniente tener más hembras de una de estas poblaciones. En el caso de *Gastrotheca cornuta*, tuvimos algo de éxito al encontrar dos machos de esta especie durante la expedición del mes de Diciembre. En el sitio 4CS6 existe una población donde se observa la presencia de individuos de esta especie con cierta frecuencia; por lo que, próximamente estaremos visitando este sitio en busca de más individuos.



Juvenil de *Craugastor evanesco* nacido en cautiverio. Diciembre 2016.

Durante el período Diciembre-Enero, hubo varios eventos de reproducción de las especies *Andinobates geminisae* y *Oophaga vicentei*, especialmente de la primera especie. Al final del período, estimamos que se tenían unos 37 renacuajos de las dos especies, ya que no se pueden contar todos los renacuajos por encontrarse entre las axilas de las hojas de las plantas bromelias. Estos eventos reproductivos y los descendientes que se añaden a la población, aún constituyen el inicio del establecimiento de poblaciones estables en cautiverio del programa de conservación ex situ. Sin embargo, no tuvimos un reclutamiento significativo para estas dos especies de dendrobátidos durante este período. A pesar de esto, notamos una disminución en la frecuencia del “Spindly Leg Syndrome” (SLS) en post-metamorfos de ambas especies; el cual, impide el movimiento normal para una adecuada alimentación y conlleva a la muerte del individuo. La causa de este síndrome aún no ha sido dilucidada, pero los veterinarios del proyecto están investigando en este problema. Adicionalmente, iniciamos un experimento con renacuajos de *Atelopus* para determinar el efecto que tienen el tipo de dieta, abundancia de alimento, tratamiento del agua (filtrada *vs.* ósmosis inversa) y suministro de vitaminas del complejo B en la aparición del SLS; el cual, está siendo realizado por un biólogo pasante, Julio Camperio, con miras a entender mejor este síndrome y tomar medidas para disminuir su incidencia en nuestra población de ranas.

En este período, hubo un intento infructuoso de reproducción de una pareja de *Gastrotheca cornuta*, debido a que el macho no introdujo los huevos en la bolsa marsupial de la hembra. Se reprodujeron 4 parejas de *Atelopus varius*, que resultaron en 500 post-metamorfos, 300 post-metamorfos, una masa con huevos fértiles y una masa de huevos (aún por definir si fueron

fecundados). De las dos puestas fértiles de *A. varius* reportadas en períodos pasados, actualmente tenemos 835 juveniles y 480 subadultos. Estos resultados constituyen un gran avance hacia la conformación de poblaciones estables en cautiverio de esta especie. Un evento de reproducción notable, fue el resultado de la puesta de huevos fértiles por una pareja de *Craugastor evanesco*, que fue reportada en el trimestre pasado; de la cual, nació un juvenil de esta especie, que se caracteriza por tener un desarrollo directo de sus huevos. Ésta es la primera vez que se ha reproducido esta especie en cautiverio. Esperamos que este evento reproductivo se repita próximamente, ya que tenemos dos parejas de *C. evanesco* en abrazo nupcial.

Adicionalmente, se continuado con la introducción de datos de los individuos provenientes de Donoso, que se incorporan al programa de conservación ex situ del EVACC y Gamboa-ARCC, en la base de datos "Zoological Information Management System" (ZIMS) (http://www2.isis.org). Por consiguiente, todas las ranas adultas de Donoso que están en el programa de conservación se encuentran registradas en dicho sistema. Este sistema de manejo de información es un programa de estándares mundiales que permite capturar y compartir datos zoológicos. El mismo facilita el manejo del inventario de animales, el control de la conformación genética y demográfica de las colecciones de animales vivos, la identificación de animales no relacionados para realizar cruces, el mantenimiento de un registro del estado de salud y el tratamiento que se le ha dado a cada individuo, entre otros.

Objetivo 4. - Estudio de los agentes patógenos de anfibios, hongos* Batrachochytrium dendrobatidis *y* Fusarium *cf.* solani*, en la región de Donoso.

Durante este período, aún estamos manteniendo y esperando a que individuos de *Atelopus varius,* nacidos en cautiverio se desarrollen y crezcan hasta una talla adecuada, con el propósito de utilizar una porción de éstos en experimentos con hongos (i.e., *B. dendrobatidis* y *F. keratoplasticum*) y tratamientos (i.e., soluciones de Itraconazol y Betadine). Estos experimentos son importantes para determinar si existe una interacción entre ambos hongos que aumenta la mortalidad en ranas y determinar cuáles tratamientos son los más indicados para curarlas.

También, continuamos con la búsqueda de técnicas moleculares y cebadores nuevos para la detección de *Fusarium* spp. y *F. keratoplasticum*. Los investigadores Robert Fleischer y Nancy McInerney del National Zoological Park del Instituto Smithsonian nos han apoyado en el diseño del juego de cebadores (primers) y sonda (probe) para la detección de *Fusarium* por medio de la técnica de qPCR. Estos cebadores y la sonda fueron probados por un estudiante de post-grado de George Mason University, Blake Klocke, para asegurarnos que éstos funcionan antes de usarlos en Panamá; sin embargo, las pruebas iniciales no resultaron. Estos experimentos se van a volver a repetir, probablemente se requiera rediseñar los primers. Adicionalmente, el doctor veterinario Allan Pessier ha estado realizando exámenes histopatológicos en muestras obtenidas de ranas de *Atelopus varius* aparentemente infectadas por *F. keratoplasticum* provenientes del Gamboa-ARCC y EVACC. Sus resultados preliminares, indican que el hongo



sospechoso, asociado a las muertes en 2014, es el mismo que en 2016.

Macho de *Hyloscirtus colymba* posiblemente infectado por *B. dendrobatidis.* Noviembre 2016.

En relación a la prevalencia del hongo *B. dendrobatidis* en los anfibios que fueron encontrados en el área de Donoso, durante la expedición realizada en el mes de noviembre, se obtuvieron muestras de la piel con hisopos de 36 individuos. Los sitios donde se obtuvieron estas muestras fueron: Quebrada Valle Grande y el sitio 4CS6. En la expedición llevada a cabo en el mes de diciembre, se obtuvieron hisopos de 53 individuos, encontrados en la Quebrada Valle Grande y el sitio 4CS6. Los anfibios que fueron muestreados incluyen individuos de las especies EdI colectadas e individuos de éstas y otras especies que fueron liberadas inmediatamente después de tomarles la muestra. En ambos meses se encontró una rana muerta en la quebrada Valle Grande, *Hyloscirtus colymba* y *Atelopus varius*, respectivamente, con síntomas aparentes de infección por *B. dendrobatidis*. El análisis de qPCR para diagnosticar la presencia de este hongo en todas estas muestras será realizado próximamente.